

## **A gyógyszer technológia és az ipari gyógyszerészet újabb eredményei I.**

### ***Innovatív technológiák és vizsgáló módszerek alkalmazása a hagyományos és alternatív gyógyszerbevitelben***

(Gyógyszer technológiai és Ipari Gyógyszerészeti Konferencia 2015. október 15-17 Siófok:

Szegedi Tudományegyetem Gyógyszer technológiai Intézet és Gyógyszer felügyeleti Intézet által prezentált kutatási témák összefoglalása)

*Ambrus Rita<sup>1</sup>, Csányi Erzsébet<sup>1</sup>, Csóka Ildikó<sup>2</sup>, Ifj. Regdon Géza<sup>1</sup> és Szabóné Révész Piroska<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> Szegedi Tudományegyetem Gyógyszer technológiai Intézet

<sup>2</sup> Szegedi Tudományegyetem Gyógyszer felügyeleti Intézet

#### **1. Bevezető**

A Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság Gyógyszer ipari Szervezetének és Gyógyszer technológiai Szakosztályának Konferenciája 2015. október 15. és 17. között került megrendezésre Siófokon. A rendezvényen a gyógyszer technológia és az ipari gyógyszerészet újabb eredményei mellett a gyógyszer fejlesztés-, gyártás-, engedélyezés-, ellátás és az oktatás általánosabb kérdéseivel is találkoztak a résztvevők. Az alábbi összeállítás áttekintést nyújt az *SZTE Gyógyszer technológiai Intézete és Gyógyszer felügyeleti Intézete* által bemutatott kutatási témákról és azok eredményeiről. A rendezvényen az említett két *SZTE Intézet* összesen 11 verbális és 5 poszter előadás bemutatásával képviseltette magát. A 3 legjobb poszter előadást díjazta a szakmai zsűri. Ilyen módon a Gyógyszer technológiai Intézet *két posztere* is elismerésre került.

Jelen kutatási munkák eredményességét a *Richter Gedeon Gyógyszergyárral* történő szoros együttműködés (pl. közös PhD program és K+F tevékenység) is jelentős mértékben segítette.

#### **2. Innovatív technológiai megoldások a beviteli kapuk tükrében**

##### **2.1 Hagyományos gyógyszerbevitel**

Napjainkban a *PAT alkalmazásával* a gyártás kritikus paraméterei folyamatosan ellenőrizhetők. Ez különösen fontos a fehérje típusú anyagok feldolgozása során azok érzékenysége (pl. hőérzékenység) miatt. Célunk egy innovatív hőmérséklet és páratartalom mérő kalibrált (ISO 17025) szenzor (PyroButton® és PyroDiff®) alkalmazhatóságának vizsgálata volt *örvényáramú granulálás* során. Kísérleteink során 2<sup>3</sup> faktoriális

kísérlettervezéssel a chopper (aprító) és impeller (keverő) hatását vizsgáltuk pepszintartalmú granulátumok előállítása során. Tanulmányoztuk a hőmérséklet hatását is, melyet a szenzoroknak köszönhetően különböző pontokban pontosan detektálni tudtunk. Az optimalizációs paraméterek az enzimaktivitás, átlagos szemcseméret, törési szilárdság, az átmérő-arány (aspect ratio) és kerekdedség voltak. A szenzorok ígéretes eszköznek bizonyultak, mert alkalmazásukkal pontosan nyomon tudtuk követni a hőmérséklet és páratartalom változást granulálás közben a tartály különböző pontjaiban.

A **gyógyszeres rágógumi** kényelmes használatának és gyermekgyógyászatban mutatott előnyeinek köszönhetően egyre szélesebb körben alkalmazott gyógyszerforma napjainkban. Ipari szempontból idő- és költségtakarékosabb gyártási módjuk a közvetlen préselés, amely során technológiai kihívást jelent a rágógumi alapanyagok présszerszámokhoz való tapadásának csökkentése. A kísérletek során magnézium-sztearát, nátrium-sztearil-fumarát és poloxamer komponensek rágógumi-alap tablettázhatóságára gyakorolt hatását vizsgáltuk 1%, 2% illetve 3%-os keverékekben. Az eredmények alapján kijelenthető, hogy a különböző minőségű lubrikánsok alapvetően befolyásolják a rágógumi-alapok préselés közben mutatott viselkedését. A préselés során kialakuló eltérő szerkezet alapvetően befolyásolta a rágógumik periodikus terhelésre adott válaszát, ezáltal a rághatóságot és feltételezhetően a hatóanyag leadást is.

Olvadék technológia alkalmazásával előállítható a hatóanyag és a segédanyagok szilárd diszperziója. „**In situ coating**” módszert alkalmazva a gyógyszerforma és a bevonat kialakítása egy lépésben történik. Amint az olvadékot egy alacsony szabadenergiájú fém felületre cseppentjük, dermedés közben fázis szeparáció játszódhat le, ha a segédanyagok eutektikumot képeznek egymással, kialakítva ezzel bevonatként egy szilárd héjat. Kísérleteink során Paracetamol (PCT), xilit, mannit és PEG 6000 (PEG) tartalmú pasztillákat állítottunk elő és vizsgáltunk (1. ábra). A vizsgálatok fő célja a hatóanyag rekrisztallizációjának, eloszlásának és kioldódásának vizsgálata a hordozóban. A munka eredményeképpen megállapítható, hogy kis energia befektetéssel, egy lépésben előállítható PCT és xilit-mannit-PEG szilárd diszperziójából álló gyors kioldódású pasztilla.



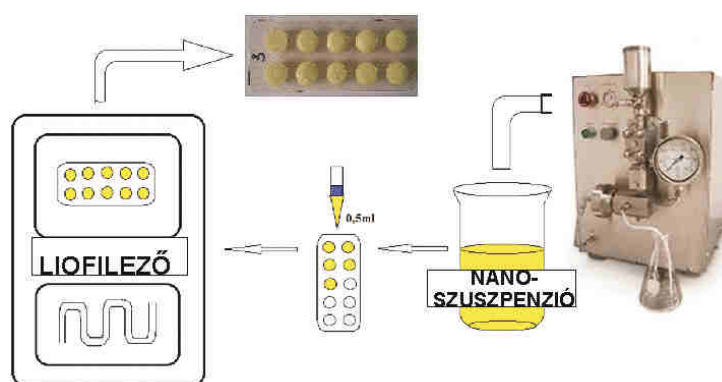
1. ábra Paracetamol tartalmú pasztilla előállítása „in situ coating” eljárással

Napjaink egyik gyógyszeripari problémája, hogy miként lehet enzimeket és más fehérjéket szilárd gyógyszerformákba formulálni. A közvetlen préseléssel előállított **szájban diszpergálódó tabletták (ODT)** megoldást jelenthetnek erre a problémára. A kísérletsorozatban *lizozimet* használtunk, mely pozitív hatásai miatt (Barrett oesophagitis, Crohn betegség, különböző eredetű colitis-ek) az utóbbi években ismét a figyelem középpontjába került. A fejlesztés során „co-processed” ODT segédanyagok alkalmazhatóságát hasonlítottuk össze, egyedileg összeállított fizikai keverékekkel, melyekben két töltő/stabilizáló segédanyag három különböző szuperdezintegráns kétféle koncentrációjával készült kombinációit vizsgáltuk. Megállapítottuk, hogy az enzimaktivitás megőrzésének szempontjából az alkalmazott szuperdezintegránsnak van a legnagyobb jelentősége.

A nano-hordozókra vonatkozó szigorú biokompatibilitási és toxicitási vizsgálatok alapján a **titanát nanocsövek** biztonságosan alkalmazhatóak gyógyszerhordozó rendszerként, így megoldást nyújthatnak különböző hatóanyagok feldolgozhatóságának és oldékonyságának javítására, valamint lehetővé tehetik a hatóanyagok kioldódási kinetikájának módosítását is. Munkánk során a négy BCS osztályt képviselő hatóanyagot (diltiazem-hidroklorid, diklofenac-natrium, atenolol, hidroklorotiazid) és a velük képzett titanát nanocső kompozitokat hasonlítottuk össze, hogy megállapítsuk, miként befolyásolja a kompozit forma a hatóanyagok fizikai-kémiai tulajdonságait. Eredményeink alapján a titanát nanocsövek kiválóan alkalmasak

rossz mechanikai sajátságokkal rendelkező hatóanyagok feldolgozhatóságának javítására, továbbá mérsékelten fokozzák az oldékonyságot is.

Nanokristályos meloxicám tartalmú **orodiszperz liofilizátumok** előállítását és vizsgálatát végeztük el (2. ábra).  $3^3$  kísérleti tervezés alkalmazásával a nagy nyomású homogenizálással készült nanoszuszpenzió összetételét (ható- és segédanyag koncentráció, segédanyag típusa), valamint a fagyasztva-száritás paramétereit és a forma kialakítása szempontjából fontos mátrixképzők típusát és arányát optimalizáltuk a hatóanyag szemcsemérete, illetve a gyógyszerformára vonatkozó követelmények (mechanikai szilárdság, dezintegrációs idő, oldódási sebesség) alapján.



2. ábra Nanokristályos orodiszperz liofilizátumok előállítása

A **bukkális nyálkahártyán** felszívódó anyagok a máj first pass effektusát elkerülve kerülnek a szisztémás keringésbe, ezáltal gyors hatás érhető el. A különböző típusú HPMC-k közül a Methocel E5-LV és Methocel E15-LV bizonyult alkalmazhatónak. Ezen eredmények ismeretében a kiválasztott HPMC filmeket különböző koncentrációban (1 és 2 %) cukorészterrel (P-1670) kombináltuk. A filmeket öntéses technológiával állítottuk elő, teflon felületen. Vizsgáltuk az előállítási és szárítási hőmérséklet hatását, meghatároztuk a cukorészter mukoadhézióra, szakítószilárdságra és a felületi szabadenergiára gyakorolt hatását.

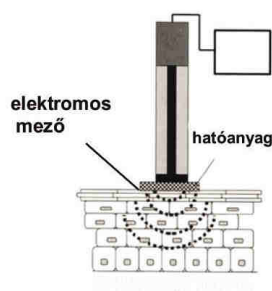
## 2.2 Alternatív gyógyszerbevitel

A **dermális készítmények** fejlesztése során egyre nagyobb az igény az olyan hordozó rendszerek iránt, amelyek a hatóanyag penetráció szempontjából kedvezően befolyásolják a bőrállapotot, illetve elősegítik a rossz vízdékonyságú hatóanyagok oldékonyság növelését. A lipid nanorészecskék olyan gyógyszerhordozó rendszerek, amelyek o/v emulziókra vezethetők vissza és alkalmasak lehetnek rossz vízdékonyságú molekulák bezárására. Két generációjukat

különböztethetjük meg: a *szilárd lipid nanorészecskéket (SLN)* és a *nanostruktúrált lipid hordozókat (NLC)*. Az SLN lipid mátrixa kizárólag szilárd lipidből vagy azok keverékéből áll, míg az NLC-t szilárd és folyékony lipidek keveréke alkotja. A lipid nanorészecskék filmet képeznek a bőrön okklúzív hatást kifejtve, így alkalmazásukkal közvetetten és közvetlenül is in vivo bőrhidratáció biztosítható. Segítségükkel nyújtott és gyors hatóanyagleadás is elérhető. A kutatási munka során olyan ibuprofén tartalmú NLC rendszer fejlesztése és vizsgálata volt a cél, amely alkalmas lehet az akut- és krónikus arthritis kezelés hatékonyságának növelésére.

A modern dermális készítményalapok közé tartoznak a *mikroemulziók (ME)* és a *liotróp folyadékkristályos rendszerek (LLC)*. A liotróp folyadékkristályok általában vízből, tenzidből és esetleg olajból, egy meghatározott koncentráció és hőmérséklet-tartományban felépülő félszilárd rendszerek. Termodinamikai stabilitásuk mellett jó bioadhéziós tulajdonsággal rendelkeznek. Felépítésük hasonló a stratum corneum lipid mátrixához, ezért segíthetik a bioaktív anyagok bőrbe való penetrációját. Eredményeink alapján megállapítható, hogy mindkét rendszer hosszan és tartósan hidratálja a bőrt, és segít megőrizni a stratum corneum speciális szerkezetét, ilyen módon új típusú nanohordozó rendszerként alkalmazhatóak.

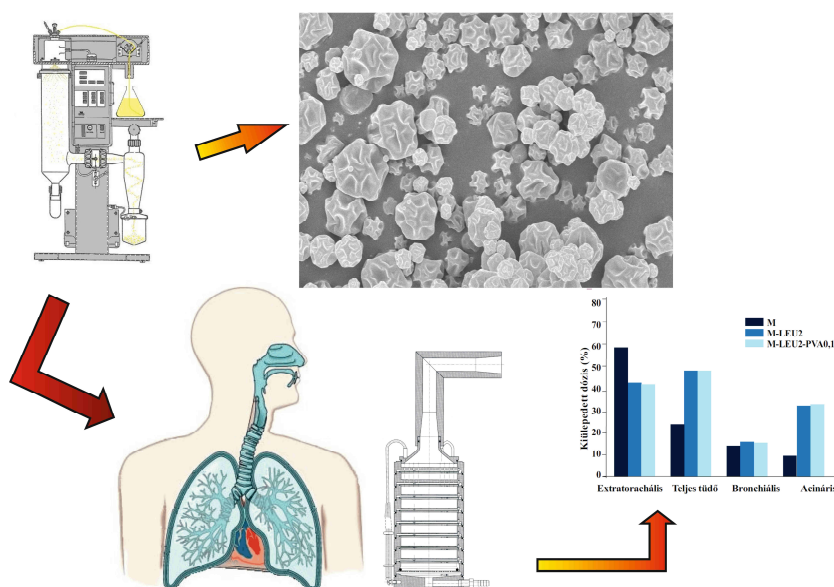
A transzdermális hatóanyag penetráció gátját képezi a stratum corneum barrier funkciója. A penetráció elősegítésére *elektroporációt* alkalmaztunk, amely a lipid kettősréteg átmeneti szerkezeti megbontását okozza magas feszültségű elektromos impulzusok segítségével. Ennek az új típusú fizikai penetrációfokozó eszköznek az alkalmazása reverzibilis módon nagyságrendekkel megnövelheti egyes anyagok bőrön keresztüli bevitelét. A kísérleti munka során genistein tartalmú liotróp folyadékkristályos rendszer dermális alkalmazhatósága került igazolásra melanóma egér modellen. Munkánk során igazoltuk, hogy a genistein permeációja jelentősen növelhető elektroporációval kombinálva, amely új lehetőség vetít elő hatóanyagok transzdermális bejuttatására (3. ábra).



lapelektroda a kezelőfejben

### 3. ábra Új lehetőség a hatóanyagok bőrön keresztüli bejuttatására

Az **inhalációs készítmények** esetében az utóbbi időben leginkább a szilárd formájú (dry powder inhaler, DPI) készítmények térhódítása figyelhető meg, kiemelkedő stabilitásuk, kedvező előállítási költségük, valamint egyszerű alkalmazhatóságuk miatt. Az innovatív technológiai megoldások és a segédanyagok lehetőséget adnak új típusú hatóanyaghordozó rendszerek fejlesztésére, ami megnöveli a készítmény biológiai hatékonyságát. A munka célkitűzése meloxicám-kálium (szabadalom szám: WO2006064298A1) tartalmú, DPI készítmény fejlesztése, amely krónikus tüdőbetegségek (tüdőfibrózis, nem kisesejtek tüdőkarcinóma) kezelésére alkalmazható. A ko-porlasztással előállított mikrokompozitokat gyógyszerkönyvben hivatalos (Andersen-féle kaszkádimpaktor) és Magyarországon egyedülálló in silico aerodiszperziós rendszerrel, a Sztochasztikus Tüdőmodell vizsgáltuk (4. ábra). Jellemezésre került a részecskék depozíciója a felső és alsó légutakban, valamint a teljes tüdőben, figyelembe véve az egyénre és a készítményre vonatkozó paramétereket. Eredményeinkre támaszkodva a jövőben tüdőmodellek alkalmazásával az innovatív összetételű pulmonális gyógyszerek fejlesztésén dolgozunk.

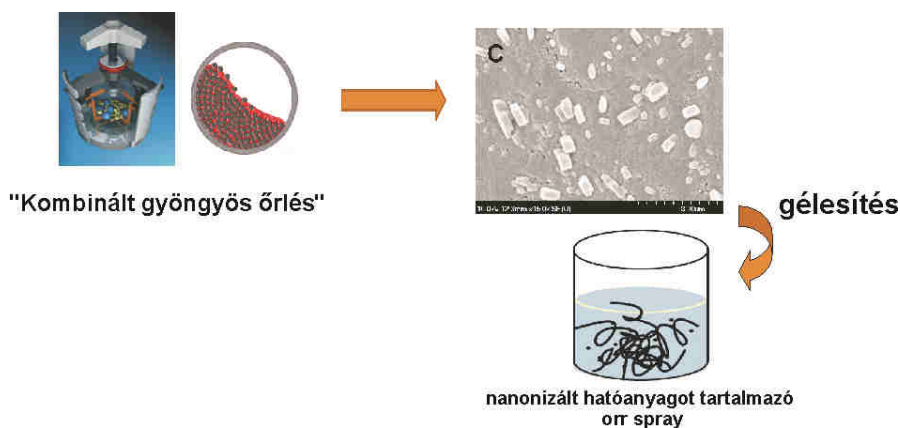


### 4. ábra Száraz porinhalációs rendszerek előállítása és vizsgálata

Az **orr - mint alternatív beviteli kapu** – az utóbbi évtizedben egyre nagyobb figyelmet kap, mivel a gyógyszerfejlesztésben számos terápiás előnnyel rendelkezik. Számos ismert hatóanyagnak új indikációs területet nyithat meg és sok farmakon-jelölt bejuttatási problémáit is megoldhatja. Modellanyagunk egy nemszteroid gyulladáscsökkentő és fájdalomcsillapító, a meloxicám (MEL) és sója (MEL-K), amelynek intranazális bevitelével kívánunk

fájdalomcsillapító hatást elérni. Jelen munkánkban célul tűztük ki a MEL összehasonlítását a MEL-K-mal. Összehasonlításra kerültek a két hatóanyag biofarmáciai szempontból vett fizikai jellemzői. A modern gyógyszerfejlesztési protokolloknak megfelelően egy általunk módosított „Side-Bi-Side” horizontális diffúziós módszert alkalmazva *in vitro* (mesterséges membrán) vizsgáltunk az intranazális gyógyszerformákat, amelyet összehasonlítottunk *in vivo* mérésekkel. Elmondható, hogy a MEL-K-t tartalmazó rendszerekből nagyobb mennyiségben diffundált át a hatóanyag a membránon, illetve nagyobb vérplazma koncentráció érhető el *in vivo*.

A nanotechnológia különlegessége abban rejlik, hogy a „nano mérettartományban” a hatóanyag olyan fizikai-kémiai sajátságokat vesz fel, amely áttörést jelenthet a generikus gyógyszerek fejlesztésében, hiszen meglévő hatóanyagoknak alternatív bevitelt, új terápiás indikációt nyújthat. Kombinált nedves őrlés használatával, az eljárási paraméterek és összetétel optimalizálásával, *nanonizált meloxicám* részecskéket állítottunk elő. Az átlagosan 120-200 nm-es hatóanyagot tartalmazó prediszperziókból *intranazális viszkózus oldatot* formuláltunk és vizsgáltunk *in vitro* és *in vivo* (5. ábra). Megállapítottuk, hogy a nanonizálás oldékonyság és oldódási sebesség növekedést valamint szignifikánsan jobb AUC értékeket eredményezett a kiindulási és mikronizált termékekhez viszonyítva.



5. ábra Nanorészecskék intranazális formulálása

A széles körben előforduló időskori makula degeneráció, glaukóma, diabéteszes retinopátia és szemészeti gyulladásos betegségek jobb, hatásosabb és innovatív kezelést igényelnek. A jelenleg forgalomban lévő *szemészeti készítmények* biohasznosulása 5% alatti. Az alacsony biológiai hasznosíthatóság javítható olyan készítmények fejlesztésével, amelyek nyújtott hatást biztosítanak a szemben. Ennek egyik lehetősége mukoadhezív polimerek



alkalmazása. A lineáris nátrium- és cink-hialuronát jelenleg forgalomban lévő szemészeti készítmények komponense, míg a keresztkötött nátrium-hialuronátot még nem alkalmazták szemészeti terápia során. Célul tűztük ki az új típusú tiolált poliaszparaginsav vizsgálatát is, amely egy biokompatibilis, biodegradábilis in situ gélesedő polimer. Eredményeink alapján megállapítható, hogy a hialuronsav származékok és a tiolált polimerek jó mukoadhezív tulajdonságuknak köszönhetően, *szemészeti készítmények hordozórendszerei* lehetnek (6. ábra).



6. ábra Új típusú szemészeti hordozó rendszer

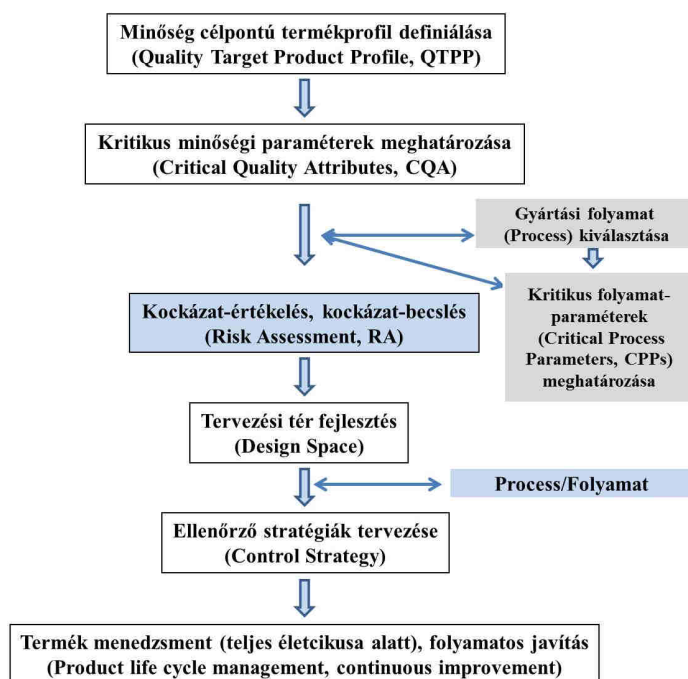
Számos idegrendszeri kórkép során gyulladásos folyamatok lépnek fel melyek következtében sérülhet a vér-agy gát, ami súlyosbíthatja az idegsejtpusztulást. A **vér-agy gátat** alkotó agyi kapilláris endotélsejtek védelme ezért terápiás szempontból is fontos. Az  $\alpha$ -melanocita stimuláló hormon ( $\alpha$ MSH) gyulladáscsökkentő és védőhatását, a proinflammatorikus fehérjék expressziójának gátlását már számos kórképben, többek között retina károsodásban is igazolták, azonban jelenleg nincsenek adatok a vér-agy gátra kifejtett hatásáról. Kísérleteink során megvizsgáltuk az  $\alpha$ MSH védőhatását a vér-agy gát tenyészetes modelljén. Elsőként mutattuk ki az  $\alpha$ MSH védőhatását a vér-agy gát modelljén. Eredményeink felvetik az  $\alpha$ MSH hormon esetleges terápiás alkalmazását a vér-agy gát protekciójára.

### 3. Modern vizsgáló módszerek a technológiai fejlesztő munkában

A **Quality by Design (QbD)** módszer, mint modern minőségmenedzsment technika a gyógyszeriparban egyre inkább szükségszerűen jelen van. Alkalmazását a hatósági szabályozó, engedélyező szervek is kiemelten javasolják. A munka során választott modell egy nano-méretű hatóanyagot (meloxicám) tartalmazó, alternatív beviteli kapun alkalmazható (nazális) formula. Ezen keresztül mutattuk be a korai fejlesztésbe beépített QbD koncepció lehetséges előnyeit és eredményeit. A szoftveres támogatással végzett kockázatbecslés eredményeként teoretikusan megállapítható, hogy mely faktorok és tényezők bírnak kritikus hatással a végtermék minőségi paramétereire. Ezek a tényezők klasszifikálhatók és várható hatásuk alapján osztályozhatók,



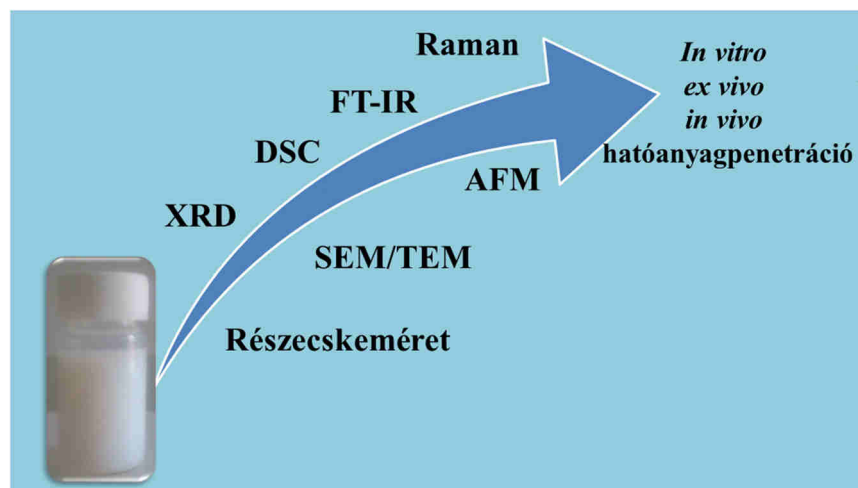
besorolhatók. Összegzésként megállapítottuk, hogy a QbD alapú fejlesztés és a kockázatbecslés eredményeként a gyakorlati munka hatékonysága fokozható, a humán- és a pénzügyi források optimalizálhatók. Ezzel idő- és költségcsökkentés érhető el, már a korai fejlesztésben is, hosszútávon pedig az utólagos hatósági engedélyezés, illetve beadvány módosítás kerülhető el.



7. ábra A QbD módszer elemei az ICH Q8-as guideline szerint

A különböző módokon formulált **nanorendszerek jellemzésére** részecskeméret meghatározás, zéta potenciál, röntgendiffrakció, Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópia, Raman spektroszkópia és atomerő mikroszkópia szolgált.

Az alternatív bevitelre (pl. bőr, orr, tüdő) szánt gyógyszerformák esetén korszerű, modern vizsgálati módszerek alkalmazása szükséges. A rendszerek bőrhidratációra gyakorolt hatását *in vivo* **humán bőrön**, közeli infravörös spektroszkópiával (NIR), corneometriás valamint transzepidermális vízvesztés (TEWL) mérésével vizsgáljuk (8. ábra).



8. ábra NLC rendszerek korszerű vizsgálatai

A ko-porlasztással előállított mikrokompozitokat gyógyszerkönyvben hivatalos (Andersen-féle kaszkádimpaktor) és Magyarországon egyedülálló *in silico* **aerodiszperziós rendszerrel**, a **Sztochasztikus Tüdőmodell** alkalmazásával vizsgáltuk. Ezen szimulációval jellemezhető a részecskék depozíciója a felső és alsó légutakban, valamint a teljes tüdőben, figyelembe véve az egyénre és a készítményre vonatkozó paramétereket.

A nyálkahártyákon történő **adhézió/mukoadhézió/permeáció jellemzésére** különböző vizsgálati modelleket fejlesztettünk (pl. módosított Side bi Side cella).

Különböző vizsgálati módszereket alkalmaztunk a sejtszintű folyamatok tanulmányozására. **Immunfestéssel** igazoltuk pl. az  $\alpha$ MSH receptor MC-1 melanokortin receptor fehérje jelenlétét agyi endotélsejteken. A védőhatást igazoltuk az életképesség, a metabolikus aktivitás, a permeabilitás, valamint az elektromos ellenálláson alapuló mérésekkel is.

#### 4. Összefoglalás

Összességében elmondható, hogy a konferencia jó lehetőséget biztosított arra, hogy az SZTE Gyógyszertechnológiai Intézete és Gyógyszerfelügyeleti Intézete az aktuális eredményeit bemutassa. Ezáltal az ipari-, hatósági- és társ-képzőhelyek szakemberi átfogó képet kaphattak a kutatási irányokról és stratégiákról. Célunk a jövőben további innovatív módszerek alkalmazása a gyógyszer-nanotechnológia és biotechnológia területén, ilyen módon eredményeinkkel támogatni az ipar számára is kiemelten fontos „value added” termékek létrejöttét.